

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

APPLICANT: A JAY DESHMUKH)
)
FOR: METHOD AND AUTOMATED FLUIDIC)
SYSTEM FOR DETECTING PROTEIN IN)
BIOLOGICAL SAMPLE)

CLAIM FOR PRIORITY

Mail Stop Patent Application
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450


Dear Commissioner:

Enclosed herewith is a certified copy of Korean Patent Application No. 2003-0003668 filed on January 20, 2003. The enclosed Application is directed to the invention disclosed and claimed in the above-identified application.

Applicants hereby claim the benefit of the filing date of January 20, 2003, of the Korean Patent Application No. 2003-0003668, under provisions of 35 U.S.C. 119 and the International Convention for the protection of Industrial Property.

Respectfully submitted,

CANTOR COLBURN LLP

By: 
 Soonja Bae
 Reg. No. (See Attached)
 Cantor Colburn LLP
 55 Griffin Road South
 Bloomfield, CT 06002
 PTO Customer No. 23413
 Telephone: (860) 286-2929
 Fax: (860) 286-0115

Date: January 20, 2004



This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출 원 번 호 : 10-2003-0003668
Application Number

출 원 년 월 일 : 2003년 01월 20일
Date of Application JAN 20, 2003

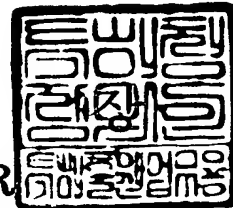
출 원 인 : 삼성전자주식회사
Applicant(s) SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.



2003 년 02 월 07 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0006
【제출일자】	2003.01.20
【국제특허분류】	G01N
【발명의 명칭】	생물학적 시료 내에서의 단백질 검출을 위한 자동화된 유 동 시스템
【발명의 영문명칭】	An automated fluidic system for protein detection in biological samples
【출원인】	
【명칭】	삼성전자 주식회사
【출원인코드】	1-1998-104271-3
【대리인】	
【성명】	이영필
【대리인코드】	9-1998-000334-6
【포괄위임등록번호】	2003-003435-0
【대리인】	
【성명】	이해영
【대리인코드】	9-1999-000227-4
【포괄위임등록번호】	2003-003436-7
【발명자】	
【성명의 국문표기】	데스무크 아재
【성명의 영문표기】	DESHMUKH, A Jay
【주소】	경기도 용인시 기흥읍 삼성종합기술원 MEMS Lab
【국적】	IN
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정 에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 이영필 (인) 대리인 이해영 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	1 면 1,000 원

1020030003668

출력 일자: 2003/2/10

【우선권주장료】	0	건	0	원
【심사청구료】	12	항	493,000	원
【합계】	523,000	원		
【첨부서류】	1.	요약서·명세서(도면)_1통		

【요약서】

【요약】

본 발명은, 각각 압축공기 유입단부와 연결된 상부 소수성 격벽, 액체 유출구와 연결된 하부 소수성 격벽 및 액체 유입구를 가진 시료 저장용기, 염료 저장용기 및 농도가 서로 다른 기저 농도의 시료를 저장하는 복수 개의 표준시료 저장용기를 포함하는 카트리리지 저장용기부; 및 각각 상기 시료 저장용기 및 상기 표준시료 저장용기의 상기 액체 유출구와 연결된 유입구, 내면에 부착된 항체 및 액체 방출단부를 가진 시료 반응부 및 복수 개의 표준시료 반응부, 및 상기 염료 저장용기의 액체 유출구와 연결되는 염료 유입구 및 완충용액 유입단부를 가진 염료/완충용액 유입부를 포함하는 미세유동채널을 포함하는 카트리지;

상기 각각의 저장용기의 압축공기 유입단부와 밸브를 통해 연결되는 압축공기 저장부;

상기 완충용액 유입단부와 밸브를 통해 연결되는 완충용액 저장부; 및

상기 시료 반응부 및 표준시료 반응부에서의 항원-항체 반응의 정도를 염료에 의한 색변화의 정도로서 측정하는 검출부를 포함하는, 생물학적 시료 내에서의 단백질 검출을 위한 자동화된 유동 시스템을 제공한다.

본 발명은, 효소면역측정법을 이용하여 생물학적 시료로부터 특정 단백질을 검출하는 데에 있어서, 시료 도입에서부터 시료 검출에 이르기까지의 일련의 과정을 하나의 단계로 자동화시킬 수 있고, 간단한 장치 구성으로 작업자의 수작업을 덜어 주어 노동력을

절감할 수 있으며, 숙련된 작업자의 조작이 없이도 단시간 내에 생물학적 시료로부터 특정 단백질을 검출할 수 있는 자동화된 유동 시스템 및 그 방법을 제공할 수 있다.

【대표도】

도 4

【색인어】

효소면역측정법, 유동 시스템, 미세유동채널, 카트리지

【명세서】

【발명의 명칭】

생물학적 시료 내에서의 단백질 검출을 위한 자동화된 유동 시스템{An automated fluidic system for protein detection in biological samples}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명의 미세유동채널에 대한 모식도이다.

도 2는 시료, 표준시료, 염료, 및 완충용액에 대한 유입구, 및 미세유동채널 내부 표면에 부착된 항체가 도시된 미세유동채널에 대한 모식도이다.

도 3은 본 발명의 카트리지에 대한 모식도이다.

도 4는 카트리지, 압축공기 저장부, 완충용액 저장부 및 검출부를 포함하는 본 발명의 자동화된 유동 시스템에 대한 모식도이다.

도 5는 본 발명의 카트리지를 컴퓨터 그래픽에 의하여 재현한 3차원 개요도이다.

<도면의 주요 부분에 대한 설명>

1: 시료 유입구 2: 표준시료 유입구

3: 염료 유입구 4: 완충용액 유입단부

5: 방출단부 6: 압축공기 유입단부

7: 상부 소수성 격벽 8: 하부 소수성 격벽

9: 카트리지 저장용기부 10: 미세유동채널

11: 밸브 12: 펌프

13: 항체

【발명의 상세한 설명】**【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

- <14> 본 발명은 생물학적 검출장치에 관한 것으로서, 보다 상세하게는, 생물학적 시료로부터 단백질을 검출하기 위한, 자동화된 유동 시스템에 관한 것이다.
- <15> 생물학적 시료에 특정 단백질이 존재하는지의 여부를 측정하는 것은 대부분의 질병 진단의 기본적인 방법으로 이용되고 있다. 그러한 방법으로서, 효소면역측정법 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 방사면역측정법 (Radioimmunoassay, RIA), 형광측정법, 핵자기 공명 (NMR) 분광기, 비색측정법 (Colorimetric assays)과 같은 방법들이 사용되어 왔으며, 그 중에서도 효소면역측정법이 가장 보편적으로 사용되어 왔다.
- <16> 효소면역측정법은 특정 단백질을 검출하는 데에 있어서, 크게 3가지 기술이 관련되어 있다. 즉, i) 관심 대상이 되는 단백질에 결합할 수 있고, 기질에 부착될 수 있거나 또는 효소로 표지될 수 있는 항체를 포함하는 항원-항체 사이의 화학반응 기술, ii) 효소와 기질의 반응에 의하여 기질의 색이 변화되고, 이러한 색 변화가 광학적으로 측정되도록 하는 검출반응 기술, 및 iii) 다양한 유체들의 정해진 순서에 따른 멀티 웰 플레이트로의 공급과, 각각의 유체의 공급 단계 사이에 이루어지는 플레이트의 세척을 포함하는 유체조작 기술이 그것이다.
- <17> 그러나, 효소면역측정법과 관련된 상기 3가지 관련 기술 중에서, 특히 유체 조작기술은 멀티 웰 플레이트로 유체를 피펫팅하고, 또한 유체를 세척하는 데에 있어서, 각각

의 테스트 수행시마다 많은 수작업을 요하고, 숙련된 작업자를 필요로 하며, 시간이 소요된다. 따라서, 이러한 유체 조작 과정을 자동화하여 단백질 검출을 더욱 용이하게 하고, 검출에 소요되는 시간을 단축시킬 필요성이 있다.

<18> 이러한 필요성에 따라서, 멀티 웰 플레이트를 사용하여 단백질을 검출하는 데에 있어서, 각 용기의 내용물을 조작하고 분석하는 데에 사용되는 여러 가지 자동화 장치가 개발되어 있다.

<19> 이와 관련하여, 대한민국 공개특허공보 제2002-43553호는 '소량 용적의 제어 조작용 마이크로 유체공학 장치'에 대하여 개시하고 있으며, 이는 일련의 채널을 이용하여 마이크로채널 내에서 물질의 극소 용적의 분획을 형성 및 수송하는 방법에 관한 것이다.

<20> 또한, 대한민국 공개특허공보 제2002-71853호는 '테스트 샘플에서 분자 이벤트를 탐지 및 규명하는 시스템 및 방법'에 대하여 개시하고 있으며, 이는 유체 저장용기, 입사 테스트 신호를 전송하도록 작동되는 신호 공급원, 측정 프로브, 신호 탐지부를 포함하는, 테스트 샘플 내에서 다양한 분자 이벤트를 탐지하는 분자 탐지 시스템에 관한 것이다.

<21> 또한, 미국특허 제6,033,911호는 '자동화된 측정 장치'에 대하여 개시하고 있으며, 이는 클러스터로서 배치되고 조작가능한 복수 개의 루멘을 갖는 자동화된 분석 시스템으로서, 각각의 클러스터들은 시료의 유입 및 방출이 독립적으로 조절되며, 또한 상기 분석 시스템은 시스템 전체를 세척할 수 있는 독특한 세척 시스템을 구비하고 있다.

<22> 그러나, 상기 언급한 종래 자동화 장치들은 시료의 유입, 채널의 세척, 염료의 유입, 채널의 재세척, 및 시료 검출에 이르기까지의 일련의 과정을 하나의 단계에 의하여

자동화시키는 데에 있어서는 한계가 있을 뿐만 아니라, 이러한 자동화 장치를 구동시키기 위하여 별도의 동력원을 필요로 하고, 복잡한 장치 구성으로 인하여 장비 구동에 전문적인 지식을 보유한 인력을 필요로 하는 관계로 유지 및 보수에 어려움이 있으며, 장비가 고가이어서 경제성이 떨어진다는 문제점이 있었다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<23> 따라서, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 효소면역측정법을 이용하여 생물학적 시료로부터 특정 단백질을 검출하는 데에 있어서, 시료 도입에서부터 시료 검출에 이르기까지의 일련의 과정을 하나의 단계로 자동화시킬 수 있고, 간단한 장치 구성으로 작업자의 수작업을 덜어 주어 노동력을 절감할 수 있으며, 숙련된 작업자의 조작이 없이도 단시간 내에 생물학적 시료로부터 특정 단백질을 검출할 수 있는 자동화된 유동 시스템 및 그 방법을 제공하고자 하는 데에 있다.

【발명의 구성 및 작용】

<24> 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여 본 발명은,

<25> 각각 압축공기 유입단부와 연결된 상부 소수성 격벽, 액체 유출구와 연결된 하부 소수성 격벽 및 액체 유입구를 가진 시료 저장용기, 염료 저장용기 및 농도가 서로 다른 기저 농도의 시료를 저장하는 복수 개의 표준시료 저장용기를 포함하는 카트리리지 저장용기부; 및

<26> 각각 상기 시료 저장용기 및 상기 표준시료 저장용기의 상기 액체 유출구와 연결된 유입구, 내면에 부착된 항체 및 액체 방출단부를 가진 시료 반응부 및 복수 개의 표준시료 반응부, 및 상기 염료 저장용기의 액체 유출구와 연결되는 염료 유입구 및 완충용

액 유입단부를 가진 염료/완충용액 유입부를 포함하는 미세유동채널을 포함하는 카트리 지;

<27> 상기 각각의 저장용기의 압축공기 유입단부와 밸브를 통해 연결되는 압축공기 저장 부;

<28> 상기 완충용액 유입단부와 밸브를 통해 연결되는 완충용액 저장부; 및

<29> 상기 시료 반응부 및 표준시료 반응부에서의 항원-항체 반응의 정도를 염료에 의한 색변화의 정도로서 측정하는 검출부

<30> 를 포함하는, 생물학적 시료 중의 단백질을 검출하기 위한 유동 시스템을 제공한다

<31> 또한, 본 발명은,

<32> 본 발명에 따른 유동 시스템을 사용하여 시료 중의 단백질을 검출하는 방법에 있어 서,

<33> 상기 압축공기 유입단부를 통하여 압축공기를 공급함으로써 상기 시료 저장용기 및 표준시료 저장용기로부터 시료 및 표준시료를 시료 반응부 및 표준시료 반응부에 공급 하여 항원-항체 반응을 유도하는 단계;

<34> 상기 완충용액 유입단부를 통하여 완충용액을 공급하여 상기 시료 반응부 및 표준 시료 반응부를 세척하는 단계;

<35> 상기 압축공기 유입단부를 통하여 압축공기를 공급함으로써 상기 염료 저장용기로 부터 염료를 염료/완충용액 유입부로, 이어서, 상기 시료 반응부 및 표준시료 반응부에 공급하는 단계;

- <36> 상기 완충용액 유입단부를 통하여 완충용액을 공급하여 상기 시료 반응부 및 표준 시료 반응부를 세척하는 단계; 및
- <37> 상기 시료 반응부 및 상기 표준시료 반응부에서의 색변화 데이터를 이용하여 시료 중의 단백질의 존재 여부를 검출 및 그 농도를 측정하는 단계
- <38> 를 포함하는 방법을 제공한다.
- <39> 이하, 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다.
- <40> 본 발명에 의한 일 구현예에서, 본 발명의 자동화된 유동 시스템은 크게, 분리가능한 카트리지, 압축공기 저장부, 완충용액 저장부, 및 검출부로 구성된다.
- <41> 본 발명에 의한 자동화된 유동 시스템의 카트리지는 시료, 표준시료 및 염료 각각에 대한 저장용기를 포함한다 (이하, 시료에 대한 저장용기, 표준시료에 대한 저장용기 및 염료에 대한 저장용기를 합하여 '카트리지 저장용기부'(9)라 한다).
- <42> 시료 저장용기는 본 발명에 의하여 검출하고자 하는 단백질을 포함하는 생물학적 시료를 저장하며, 이러한 생물학적 시료는, 검출하고자 하는 단백질을 포함하고 효소면역분석법에 의하여 검출이 가능한 시료라면 제한이 없으며, 혈액, 소변, 뇌척수액, 타액, 조직액 등으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- <43> 표준시료 저장용기에는 기지 농도의 검출될 단백질에 대한 표준용액이 저장되며, 이러한 표준시료에 의하여 얻어진 표준농도곡선에 검출하고자 하는 단백질을 포함하는 생물학적 시료에 대한 수치를 대입함으로써 해당 생물학적 시료 내에서의 검출하고자 하는 단백질 농도를 계산해 낼 수 있게 된다.

- <44> 염료 저장용기에는 검출하고자 하는 단백질과 특이적으로 결합하고 후술할 미세유동채널(10)의 내부 표면에 부착되는 항체(13)를 표지할 수 있는 염료가 저장된다. 본 발명에서 사용가능한 염료로는 항원 (생물학적 시료 내의 검출하고자 하는 단백질)-항체 (미세유동채널(10)의 내부 표면에 부착된 항체(13)) 반응에 의하여 광검출기에 의한 검출이 가능한 신호를 낼 수 있는 것이라면 제한이 없으며, 바람직하게는, 형광, 화학발광 또는 인광 등의 신호를 내는 염료가 사용될 수 있다.
- <45> 상기 카트리지 저장용기부를 포함하는 카트리지의 재질은 아크릴 수지, 폴리에틸렌 수지 및 폴리프로필렌 수지 등으로 이루어질 수 있으며, 카트리지의 크기는 가로 5 내지 10cm, 세로 2 내지 5cm, 및 높이 2 내지 5cm인 것이 바람직하며, 각각의 저장용기는 100 내지 500 μ l 부피의 액체를 수용할 수 있는 것이 바람직하다.
- <46> 본 발명의 카트리지 저장용기부(9)는 분석 대상이 되는 생물학적 시료 저장용기 1 개, 염료 저장용기 1 내지 2개, 및 표준시료 저장용기 2 내지 3개를 포함한다.
- <47> 또한, 카트리지 저장용기부(9)의 저장용기 각각은 상단 및 하단이 각각 압축공기 유입단부(6)와 연결된 상부 소수성 격벽(7) 및 액체 유출구와 연결된 하부 소수성 격벽(8)에 의하여 밀폐되며, 이러한 소수성 격벽은 다공성으로서, 대기압하에서 공기는 통과시키지만 액체는 통과시키지 못하게 설계되고, 하부 소수성 격벽(8)의 평균기공의 크기가 상부 소수성 격벽(7)의 평균기공의 크기보다 크게 설계되는 것이 바람직하다.
- <48> 바람직하게는, 이러한 격벽은 폴리테트라플루오로 에틸렌 (Polytetrafluoroethylene) 막으로 이루어진 것으로서, 상부 소수성 격벽(7)은 직경 0.2 내지 1 μ m의 천공을 가지고, 하부 소수성 격벽(8)은 직경 2 내지 20 μ m의 천공을 가짐으로써, 상부 소수성 격벽(7)은 하부 소수성 격벽(8)에 비하여 상대적으로 고압력이 가해질 때만 소정의 액

체가 통과될 수 있다. 예를 들어, 상부 소수성 격벽(7)은 직경 0.45 μ m의 천공을 갖고, 하부 소수성 격벽(8)은 직경 10 μ m의 천공을 갖게 되는 경우, 물에 대한 통과 압력은 전자가 2 기압인데 반하여, 후자는 0.1 기압이 된다. 소수성 격벽과 카트리지 저장용기부(9) 사이의 간극은 오-링 (O-rings) 등을 사용하여 밀봉될 수 있다.

<49> 카트리지 저장용기부(9)의 각각의 저장용기의 상단 및 하단이 상기와 같이 각기 다른 천공을 갖는 소수성 격벽(7, 8)에 의하여 밀폐됨으로써, 압축공기 유입단부(6)를 통하여 카트리지 저장용기부(9)에 소정의 압력이 가해지는 경우에는 액체가 저장용기의 상부 소수성 격벽(7)으로는 방출되지 아니하나, 하부 소수성 격벽(8)을 통하여는 방출될 수 있게 된다.

<50> 하부 소수성 격벽(8)을 통하여 방출된 액체는 미세유동채널(10)로 향하게 된다. 미세유동채널(10)은 도 1과 같은 평면 구조를 가진다. 도 2를 참조하면, 시료 저장용기 1개, 염료 저장용기 2개, 및 표준시료 저장용기 3개를 포함하는 유동 시스템에 있어서, 미세유동채널(10)은 각각 상기 시료 저장용기 및 상기 표준시료 저장용기의 액체 유출구와 연결된 시료 유입구(1) 및 표준시료 유입구(2), 내면에 부착된 항체(13) 및 방출단부(5)를 가지는 1개의 시료 반응부 및 3개의 표준시료 반응부, 및 상기 염료 저장용기의 액체 유출구와 연결된 염료 유입구(3) 및 완충용액 유입단부(4)를 가지는 2개의 염료/완충용액 유입부를 포함한다.

<51> 미세유동채널(10)은 채널 내부의 4개 영역에 검출하고자 하는 단백질과 특이적으로 결합하는 항체(13)가 부착되어 있으며, 액체가 상기 영역을 통과한 후에는 폐기공기 및 폐기액체가 외부로 방출될 수 있도록 하는 4개의 방출단부(5)와 연결되어 있다.

- <52> 바람직하게는, 상기 시료 반응부와 각각의 표준시료 반응부의 용적이 동일하여 동일한 압력이 시료 저장용기 및 표준시료 저장용기에 가해지는 경우에 동일한 부피의 시료 및 표준시료가 시료 반응부 및 표준시료 반응부를 통과하도록 설계된다. 또한, 상기 염료/완충용액 유입부의 염료 유입구(3)로부터 상기 시료 반응부의 방출단부(5)까지의 미세채널 길이와 상기 염료/완충용액 유입부의 염료 유입구(3)로부터 상기 표준시료 반응부의 방출단부(5)까지의 미세채널 길이가 동일하도록 설계됨으로써, 압축공기 유입단부(6)로부터 동일한 압력이 가해질 경우에, 시료 및 표준시료에 대하여 동일한 속도로 동일한 부피의 염료 및 완충용액이 흐르는 것을 가능하게 해준다.
- <53> 미세유동채널(10)은 폴리디메틸실록산 (polydimethylsiloxan, PDMS) 기판, 유리 기판 및 실리콘 기판 등에 성형되어질 수 있으며, 채널의 폭은 50 내지 500 μ m, 깊이는 10 내지 200 μ m로 제작되어질 수 있다. 성형된 기판은 유리 칩 등과 접합시키고, 오-링 등을 이용하여 카트리지에 밀봉시킬 수 있다.
- <54> 상기 설명한 카트리지 저장용기부와 미세유동채널(10)을 포함하는 카트리지 이외에도, 본 발명의 유동 시스템은 카트리지 저장용기부의 압축공기 유입단부(6)와 밸브(11)를 통하여 연결되는 압축공기 저장부, 완충용액 유입단부(4)와 밸브(11)를 통하여 연결되는 완충용액 저장부, 및 상기 시료 반응부 및 표준시료 반응부에서의 항원-항체 반응의 정도를 염료에 의한 색변화의 정도로서 측정하는 검출부를 포함한다.
- <55> 압축공기 및 완충용액은 각각 압축공기 저장용기 및 완충용액 저장용기에 저장되며, 각각의 저장용기에 연결된 동일한 펌프(12)에 의하여 압축됨으로써 저장용기로부터 카트리지로 이동하게 된다.

- <56> 본 발명의 유동 시스템에서 사용되는 검출부는 미세유동채널(10) 내의 시료 및 표준시료에 대한 색변화 데이터를 측정하는 광 검출기를 포함한다. 광 검출기는 형광, 화학발광, 또는 인광 등의 신호를 검출할 수 있는 것이라면 제한이 없으며, 이는 당업계에 널리 사용되는 통상의 광 검출기가 사용될 수 있다.
- <57> 본 발명의 유동 시스템은 또한 카트리지와 압축공기 저장부, 카트리지와 완충용액 저장부, 및 카트리지와 외부 사이의 유체교환통로가 되는 유체단부 (fluid port)들을 포함한다. 이러한 유체단부에는, 카트리지 저장용기(9) 각각의 상단에 설치되어 압축공기 저장용기로부터의 압축공기가 유입되는 압축공기 유입단부(6), 미세유동채널(10)에 연결되어 완충용액이 유입되는 완충용액 유입단부(4), 및 미세유동채널(10)에 연결되어 미세유동채널(10)로부터의 폐기기체 및 폐기액체를 카트리지 외부로 방출하는 방출단부(5)가 있다.
- <58> 상기 압축공기 유입단부(6), 완충용액 유입단부(4), 및 방출단부(5)는 컴퓨터 등의 자동화된 조절 시스템에 의하여 작동되는 밸브(11)에 의하여 유체 흐름이 조절을 받는다. 구체적으로는, 밸브(11)들은 컴퓨터로 조작되는 LabView™ 등의 조절 수단에 의하여 조절될 수 있으며, 각각의 유체단부는 그 기능과 특성에 맞는 밸브(11)와 연결된다.
- <59> 바람직하게는, 압축공기 유입단부에 연결된 밸브는, 밸브가 닫힌 경우에는 압축공기 유입단부를 외부 공기에 개방시키고, 밸브가 열린 경우에는 압축공기 유입단부를 펌프(12)에 개방시키는 3-방향 밸브이다.
- <60> 또한, 완충용액 유입단부에 연결된 밸브는, 밸브가 닫힌 경우에는 완충용액 저장부와 미세유동채널(10) 상호간의 완충용액의 이동을 차단하고, 밸브가 열린 경우에는 이를 가능하게 하는 2-방향 밸브이다.

- <61> 또한, 방출단부(5)에 연결된 밸브는, 밸브가 닫힌 경우에는 폐기기체 및 폐기액체의 방출을 차단하고, 밸브가 열린 경우에는 이를 가능하게 하는 2-방향 밸브이다.
- <62> 카트리리지 저장용기부(9), 미세유동채널(10), 압축공기 유입단부(6), 완충용액 유입단부(4) 및 방출단부(5)를 포함하는 본 발명에 의한 카트리리지에 대한 모식도를 도 3에 도시하였으며, 카트리지를 컴퓨터 그래픽에 의하여 재현한 3차원 개요도를 도 5에 도시하였다. 이러한 카트리지는 본 발명의 자동화된 유동 시스템으로부터 분리가능하게 설계됨으로써 카트리지 내의 시료들에 대한 색변화 데이터 측정, 카트리지의 교환, 수리, 유지 작업 등이 용이하게 수행될 수 있도록 설계되는 것이 바람직하다.
- <63> 도 4에는 카트리지, 압축공기 저장부, 완충용액 저장부, 및 검출부를 포함하는 본 발명의 자동화된 유동 시스템에 대한 모식도를 나타내었다.
- <64> 본 발명에 의한 다른 구현예에서, 본 발명에 의한 시료 중 단백질 검출방법은, 우선 압축공기 유입단부를 통하여 압축공기를 공급함으로써 상기 시료 저장용기 및 표준시료 저장용기로부터 시료 및 표준시료를 시료 반응부 및 표준시료 반응부에 공급하여 항원-항체 반응을 유도하는 단계를 포함한다.
- <65> 압축공기의 공급은 압축공기 저장부에 연결된 펌프(12)의 스위치를 작동시킴으로써 개시되며, 펌프(12)는 압축공기 저장부 및 완충용액 저장부에 소정의 압력을 가하게 되지만, 이러한 상태에서는 모든 밸브(11)들이 닫힌 상태이므로 카트리지는 아무런 영향을 받지 않는다. 그러나, 자동화된 밸브조절 시스템에 의하여 시료 저장용기 및 표준시료 저장용기의 방출밸브(11)가 개방되면 시료 및 표준시료가 미세유동채널(10)을 통과하여 흐르게 되고, 결과적으로 시료 및 표준시료가 시료 반응부 및 표준시료 반응부에 공급되

어 채널 내면에 부착된 항체와 시료 및 표준시료 중의 항원 사이에 항원-항체 반응이 수행된다.

<66> 다음 단계는, 시료 및 표준시료가 저장용기로부터 거의 방출되면 시료 저장용기에 연결된 압축공기 유입단부(6)의 밸브(11)가 밸브조절 시스템에 의하여 폐쇄되고, 완충용액 유입단부(4)와 방출단부(5)의 밸브(11)가 개방됨으로써 미세유동채널(10)에 연결된 완충용액 유입단부(4)를 통하여 완충용액이 유입되고, 미세유동채널(10)이 모두 완충용액으로 충전된다. 미세유동채널(10)을 완전히 충전시킨 후, 완충용액은 카트리지 저장용기(9)의 상부 소수성 격벽(7)에 이를 때까지 카트리지 저장용기(9)를 충전시키게 된다. 이렇게 되면 시료 및 표준시료의 저장용기가 완충용액으로 충전되어 세척되며, 시료 반응부 및 표준시료 반응부도 완충용액으로 세척되게 된다.

<67> 상기 세척 단계 이후에는, 다시 밸브조절 시스템에 의하여 염료 저장용기에 연결된 압축공기 유입단부(6)의 밸브(11)가 개방되고, 완충용액 유입단부(4)의 밸브(11)가 폐쇄됨으로써, 염료 저장용기로부터 염료가 방출되고, 방출된 염료는 미세유동채널 중의 염료/완충용액 유입부의 염료 유입구(3)를 통하여 미세유동채널로 공급되게 된다. 이때, 염료 유입구(3)로부터 각각의 방출단부(5)까지의 거리는 모두 동일하므로, 항체(13)가 부착된 각각의 채널에 흐르는 염료 용액의 양은 동일하게 된다.

<68> 염료 용액이 거의 방출된 후에는, 염료 저장용기에 연결된 압축공기 유입단부(6)의 밸브(11)가 폐쇄되고, 완충용액 유입단부(4)의 밸브(11)가 개방됨으로써 완충용액이 전체 채널을 흐르며 시료 반응부 및 표준시료 반응부의 잔여 염료를 다시 한번 세척하는 단계가 수행된다.

<69> 마지막으로, 세척된 카트리지의 시료 반응부 및 표준시료 반응부에서의 색변화 데이터를 광 검출기를 통하여 측정함으로써 시료 중의 단백질의 존재 여부를 검출할 수 있으며, 표준시료에 대한 농도곡선을 이용하여 시료 중의 단백질 농도를 측정할 수 있게 된다.

【발명의 효과】

<70> 본 발명은, 효소면역측정법을 이용하여 생물학적 시료로부터 특정 단백질을 검출하는 데에 있어서, 시료 도입에서부터 시료 검출에 이르기까지의 일련의 과정을 하나의 단계로 자동화시킬 수 있고, 간단한 장치 구성으로 작업자의 수작업을 덜어 주어 노동력을 절감할 수 있으며, 숙련된 작업자의 조작이 없이도 단시간 내에 생물학적 시료로부터 특정 단백질을 검출할 수 있는 자동화된 유동 시스템 및 그 방법을 제공할 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

각각 압축공기 유입단부와 연결된 상부 소수성 격벽, 액체 유출구와 연결된 하부 소수성 격벽 및 액체 유입구를 가진 시료 저장용기, 염료 저장용기 및 농도가 서로 다른 기지 농도의 시료를 저장하는 복수 개의 표준시료 저장용기를 포함하는 카트리지 저장용기부; 및

각각 상기 시료 저장용기 및 상기 표준시료 저장용기의 상기 액체 유출구와 연결된 유입구, 내면에 부착된 항체 및 액체 방출단부를 가진 시료 반응부 및 복수 개의 표준시료 반응부, 및 상기 염료 저장용기의 액체 유출구와 연결되는 염료 유입구 및 완충용액 유입단부를 가진 염료/완충용액 유입부를 포함하는 미세유동채널을 포함하는 카트리지;

상기 각각의 저장용기의 압축공기 유입단부와 밸브를 통해 연결되는 압축공기 저장부;

상기 완충용액 유입단부와 밸브를 통해 연결되는 완충용액 저장부; 및

상기 시료 반응부 및 표준시료 반응부에서의 항원-항체 반응의 정도를 염료에 의한 색변화의 정도로서 측정하는 검출부

를 포함하는, 생물학적 시료 중의 단백질을 검출하기 위한 유동 시스템.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 상부 소수성 격벽 및 하부 소수성 격벽은 대기압 하에서 공기는 통과시키지만 액체는 통과시키지 못하는 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 상부 소수성 격벽과 하부 소수성 격벽은 다공성이며, 상기 하부 소수성 격벽의 평균 기공의 크기가 상기 상부 소수성 격벽의 평균 기공의 크기보다 큰 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 4】

제3항에 있어서, 상기 상부 소수성 격벽의 평균 기공 직경은 0.2 내지 $1\mu\text{m}$ 이고, 상기 하부 소수성 격벽의 평균 기공 직경은 2 내지 $20\mu\text{m}$ 인 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 5】

제1항에 있어서, 상기 상부 소수성 격벽 및 상기 하부 소수성 격벽은 다공성 폴리테트라플루오로 에틸렌 (Polytetrafluoro ethylene) 막으로 형성되는 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 6】

제1항에 있어서, 상기 압축공기 저장부와 상기 완충용액 저장부에 연결되는 펌프를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 7】

제1항에 있어서, 상기 시료 반응부와 상기 각각의 표준시료 반응부의 용적이 동일한 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 8】

제1항에 있어서, 상기 염료/완충용액 유입부의 염료 유입구로부터 상기 시료 반응부의 방출단부까지의 미세채널 길이와 상기 표준시료 반응부의 방출단부까지의 미세채널 길이는 동일한 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 9】

제1항에 있어서, 상기 염료/완충용액 유입부의 완충용액 유입단부로부터 상기 시료 반응부의 방출단부까지의 미세채널 길이와 상기 표준시료 반응부의 방출단부까지의 미세채널 길이는 동일한 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 10】

제1항에 있어서, 상기 압축공기 유입단부와 상기 압축공기 저장용기 사이에 연결된 밸브는, 밸브가 닫힌 경우에는 압축공기 유입단부를 외부 공기에 개방시키고, 밸브가 열린 경우에는 압축공기 유입단부를 상기 압축공기 저장용기에 개방시키는 3-방향 밸브인 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 11】

제1항에 있어서, 상기 시료 반응부 및 표준시료 반응부의 방출단부의 개폐를 조절하는 수단을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 유동 시스템.

【청구항 12】

제1항에 따른 유동 시스템을 사용하여 시료 중의 단백질을 검출하는 방법에 있어서,

상기 압축공기 유입단부를 통하여 압축공기를 공급함으로써 상기 시료 저장용기 및 표준시료 저장용기로부터 시료 및 표준시료를 시료 반응부 및 표준시료 반응부에 공급하여 항원-항체 반응을 유도하는 단계;

상기 완충용액 유입단부를 통하여 완충용액을 공급하여 상기 시료 반응부 및 표준시료 반응부를 세척하는 단계;

상기 압축공기 유입단부를 통하여 압축공기를 공급함으로써 상기 염료 저장용기로부터 염료를 염료/완충용액 유입부로, 이어서, 상기 시료 반응부 및 표준시료 반응부에 공급하는 단계;

상기 완충용액 유입단부를 통하여 완충용액을 공급하여 상기 시료 반응부 및 표준시료 반응부를 세척하는 단계; 및

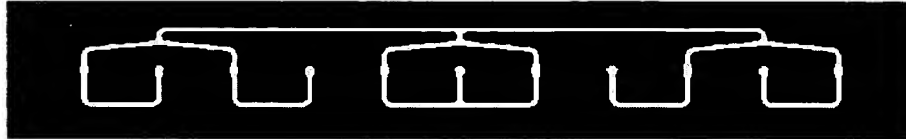
상기 시료 반응부 및 상기 표준시료 반응부에서의 색변화 데이터를 이용하여 시료 중의 단백질의 존재 여부를 검출 및 그 농도를 측정하는 단계

를 포함하는 방법.

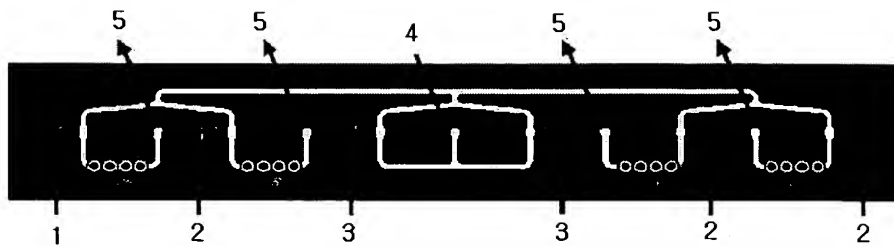


【도면】

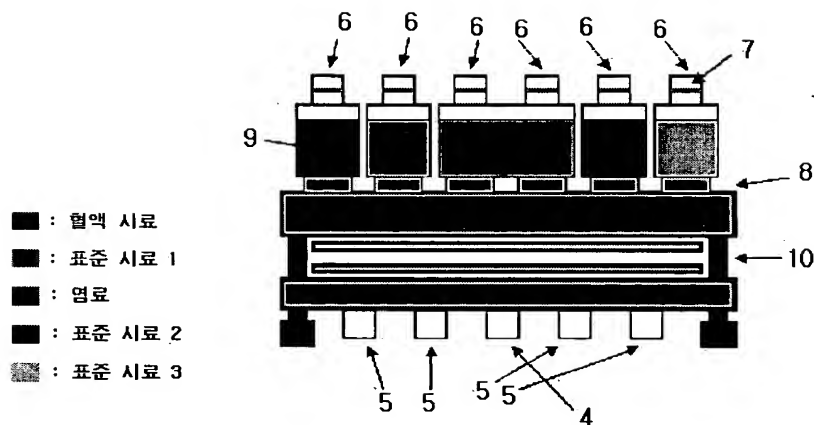
【도 1】



【도 2】

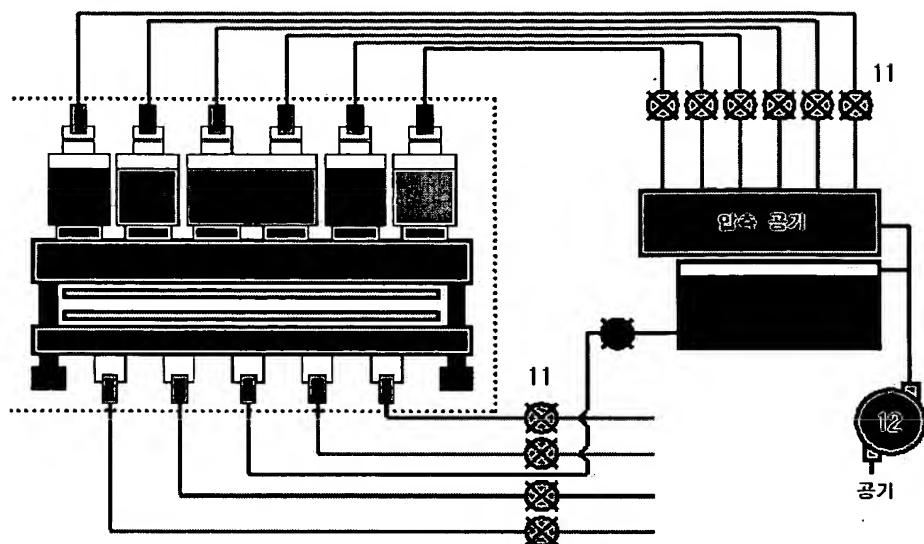


【도 3】

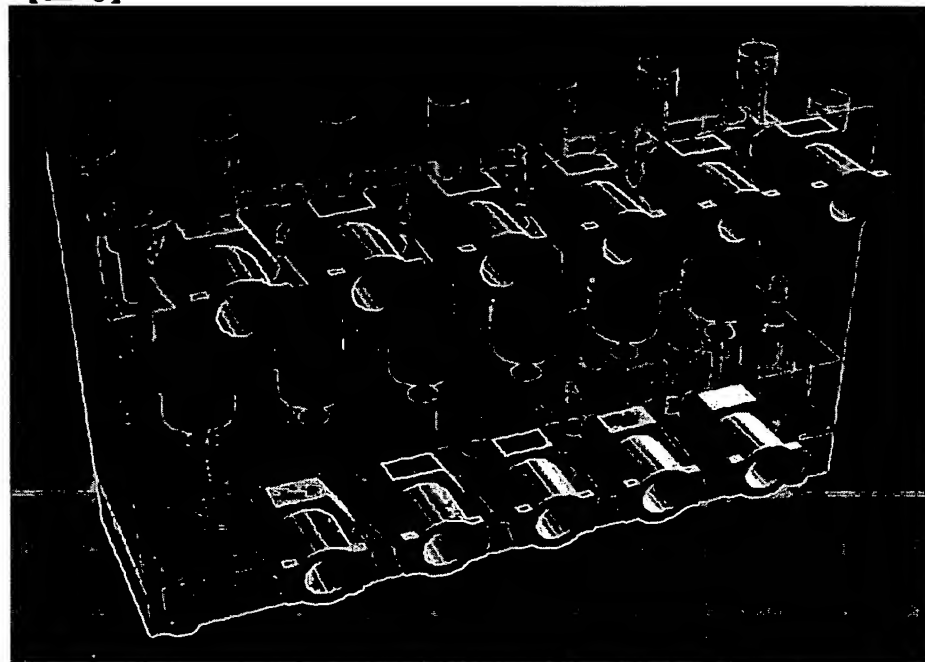


BEST AVAILABLE COPY

【도 4】



【도 5】



BEST AVAILABLE COPY